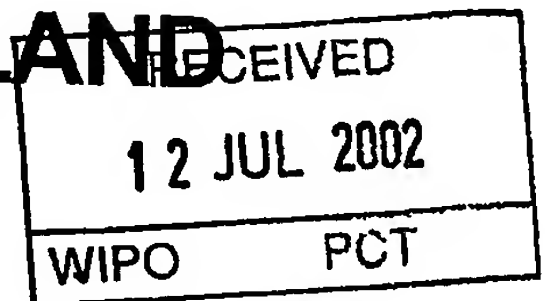


BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND



PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)



10/531658

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung**

BEST AVAILABLE COPY

Aktenzeichen: 101 56 584.4

Anmeldetag: 20. November 2001

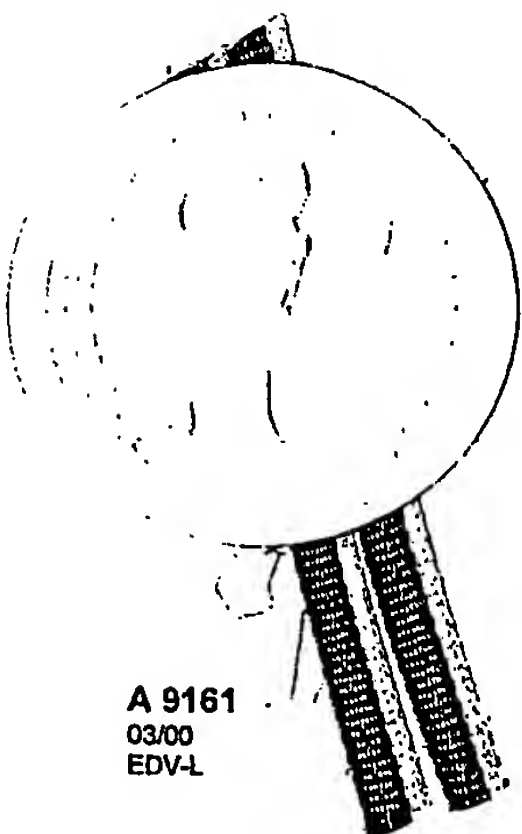
Anmelder/Inhaber: Dr. Frische GmbH, Alzenau/DE

Bezeichnung: Verfahren und Vorrichtung zur Herstellung von Fettsäureestern aus nativen Ölen und Fetten und Alkoholen, insbesondere n- und Iso-Alkoholen

Priorität: 21.6.2001 EP 01 115 081.0

IPC: C 12 P, C 12 M

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.



A 9161
03/00
EDV-L

München, den 13. Mai 2002
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Hoß



DE 101 56 584.8

Dr. Frische GmbH

1185P

Verfahren und Vorrichtung zur Herstellung von Fettsäureestern aus nativen Ölen und Fetten und Alkoholen, insbesondere n- und Iso-Alkoholen

Die Erfindung betrifft ein Verfahren und eine Vorrichtung zur Herstellung von Fettsäureestern aus nativen Ölen und Fetten und Alkoholen, insbesondere n- und Iso-Alkoholen.

Die Fettsäureester aus nativen, in Ölen und Fetten enthaltenen Fettsäuren und mittelkettigen (ab einer Kettenlänge C6) bis langkettigen (im allgemeinen bis zu einer Kettenlänge C-24) n- und Iso-Alkoholen haben für zahlreiche Anwendungen speziell auf dem Schmierstoffsektor eine hohe wirtschaftliche Bedeutung.

Ester dieser Alkohole mit ungesättigten Fettsäuren, insbesondere die Ölsäureester, lassen sich auf klassisch chemischem Weg z.B. über saure Veresterung nur schwer herstellen. Eine enzymatische Herstellung dieser Ester aus Fettsäuren und Alkohol wird bisher aufgrund des hohen Enzymbedarfs nicht durchgeführt.

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein wirtschaftlich rentables enzymatisches Verfahren zur Herstellung von Fettsäureestern aus nativen Ölen und Fetten und Alkoholen, insbesondere n- und Iso-Alkoholen, und eine entsprechende Vorrichtung anzugeben.

Diese Aufgabe wird durch den Gegenstand der unabhängigen Ansprüche gelöst. Bevorzugte Weiterbildungen sind in den Unteransprüchen definiert.

Die Erfinder hatten ein wirtschaftlich effizientes enzymatisches Fett- bzw. Ölspaltungsverfahren und eine entsprechende Vorrichtung hierzu entwickelt und festgestellt, daß sich beides in hervorragender Weise dazu verwenden läßt, die bisherigen Probleme bei der enzymatischen Herstellung der in Frage stehenden Ester "auf einen Schlag" zu lösen.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur enzymatischen Herstellung von Fettsäureestern zeichnet sich dadurch aus, daß man auf ein Gemisch aus einem Öl bzw. Fett, Wasser und einem fett- bzw. öllöslichen Alkohol, insbesondere n- und/oder Iso-Alkoholen, als Biokatalysatoren für die Spaltung des Öls bzw. Fetts und die Esterbildung Lipasen einwirken läßt. Das hierbei gebildete Reaktionsgemisch wird zur Trennung der sich beim kombinierten Spalt- und Esterbildungsprozeß bildenden wässrigen, glycerinhaltigen Phase von der organischen Phase, die die Fettsäureester enthält, in eine selbstaustragende Zentrifuge gegeben. Diese wird so eingestellt, daß eine zwischen der wässrigen und organischen Phase gebildete, mit Lipase (Enzym) angereicherte Zwischenschicht sich in der Zentrifuge ansammelt. Die Zentrifuge wird zu vorgegebenen Zeitpunkten entleert und der dabei ausgetragene Zentrifugeninhalt wird in den kombinierten Spalt- und Esterbildungsprozeß zurückgeführt. Der Zentrifugeninhalt kann auch für einen weiteren, anderen Spalt- und Esterbildungsprozeß ausgenutzt werden, indem er in diesen Prozeß eingetragen wird oder für einen späteren Prozeß lediglich bereitgestellt wird.

Als solche Zentrifuge eignen sich die sogenannten selbstentschlammenden Separatoren, in deren Tellerpaket sich die besagte Zwischenschicht anreichern kann. Prinzipiell kann man jedoch auch in äquivalenter Weise anstelle des Tellerpaketes z.B. einen Rippeneinsatz oder andere interne Strukturen wie Flügel und dergleichen verwenden. Wichtig ist, daß die Zentrifuge selbstaustragend ist, so daß es von Zeit zu Zeit möglich ist, die in der Zentrifuge angesammelte Zwischenschicht durch eine Entleerung der Zentrifugentrommel auszutragen.

Die genannte Zwischenschicht bildet sich auch ohne den Alkoholzusatz bereits bei der enzymatischen Fettspaltung, und zwar bei der Trennung der sich bildenden glycerinhaltigen wässrigen Phase und der die abgespaltenen freien Fettsäuren enthaltenden organischen Phase. Die Problematik dieser emulsionsartigen Zwischenschicht ist bekannt aus: "Continuous Use of Lipases in Fat Hydrolysis", M. Bühler and Chr. Wandrey, Fat Science Technology 89/ Dez. 87, Seiten 598 bis 605; "Enzymatische Fettspaltung", M. Bühler and Chr. Wandrey, Fett Wissenschaft Technologie 89 / Nr.4 / 1987, Seiten 156 bis 164; und "Oleochemicals by

Biochemical Reactions ?", M. Bühler and Chr. Wandrey, Fat Science Technology 94 / Nr. 3 / 1992, Seiten 82 bis 94.

In "Continuous Use of Lipases in Fat Hydrolysis" wird Öl in einem ersten Rühr-Reaktor kontinuierlich gespalten. Das Reaktionsprodukt, das neben freien Fettsäuren Wasser, Glycerin und Mono- und Diglyceride, ungespaltenes Öl sowie Enzym enthält, wird in eine Vollmantel-Tellerzentrifuge gegeben. Diese wird so eingestellt, daß die Zwischenschicht zwischen wässriger Glycerinphase und organischer Phase mit der organischen Phase ausgetragen wird. Die die Zwischenschicht enthaltende organische Phase wird einem zweiten Rühr-Reaktor zugeführt, dem ferner eine frische Wasser/Enzymmischung zugeführt wird. Das Reaktionsprodukt des zweiten Reaktors wird wiederum einer Vollmantel-Tellerzentrifuge zugeführt, die allerdings nun so eingestellt wird, daß die Zwischenschicht mit der glycerinhaltigen wässrigen Phase und die entstehenden freien Fettsäuren ohne Emulsions-Zwischenschicht ausgeschleust werden. Die wässrige Phase wird in den ersten Reaktor zurückgeleitet, so daß dort die in der Emulsions-Zwischenschicht enthaltenen Enzymmengen dem Prozeß erneut zugeführt werden.

Auch bei der erfindungsgemäß durchgeführten Spaltung mit gleichzeitiger Esterbildung tritt bei der Phasentrennung eine emulsionsartige Zwischenschicht auf, die neben der organischen Phase mit den gebildeten Estern und der wässrigen glycerinhaltigen Phase beträchtliche Enzymmengen enthält. Durch eine außergewöhnlich betriebene Zentrifuge wird jedoch die Problematik erfolgreich gelöst und eine effiziente und nahezu verlustfreie Kreislaufführung vom Enzym bewerkstelligt. Hierdurch wird es möglich, bei hoher Enzymkonzentration und damit in kurzer Reaktionszeit ohne nennenswerte Enzymverluste die Fettspaltung mit hohem Spaltgrad und die Esterbildung mit hoher Ausbeute zu betreiben.

Es wird eine selbstaustragende Zentrifuge, bevorzugt ein sogenannter selbstaustragender Separator mit Tellerpaket, eingesetzt. Die Zentrifuge wird so eingestellt, daß weder die organische esterhaltige Phase noch die wässrige Phase nennenswerte Mengen enzymhaltiger Phasengrenzemulsion enthalten, sondern sich diese in der Zentrifuge, bevorzugt im Bereich der im Tellerpaket liegenden Trennzone

eines Separators, anreichern. Dies stellt eine insofern ungewöhnliche Einstellung dar, als daß man auch bei den bekannten selbstaustragenden Separatoren, den sogenannten selbst entschlammenden Separatoren, üblicherweise gerade vermeidet, daß sich bei einer Flüssig/Flüssigphasentrennung größere Mengen einer sich bildenden Zwischenschicht im Tellerpaket ansammeln. Stattdessen sorgt man im allgemeinen dafür, daß diese Zwischenschicht möglichst gering ausfällt und in der nicht primär zu gewinnenden Phase mit ausgeschleust wird. So wurde im übrigen prinzipiell auch in der obigen Veröffentlichung vorgegangen, in der die Zwischenschicht hinter der zweiten kontinuierlich arbeitenden Mantelzentrifuge mit der wässrigen Phase ausgeschleust wurde und zum ersten Reaktor zurückgeleitet wurde.

Für den Fachmann bedeutet die erfindungsgemäße Einstellung der Zentrifuge, daß er durch die ihm geläufigen Maßnahmen der Einstellung der Wehre und/oder Einstellung des Gegendrucks für die beiden zu trennenden flüssigen Phasen dafür sorgt, daß sowohl die organische Phase als auch die wässrige glycerinhal- tige Phase möglichst klar und emulsionsfrei ablaufen.

Durch die Anwesenheit der Alkohole beim erfindungsgemäßen Verfahren treten gegenüber der reinen Spaltung weder ein nennenswert erhöhter Enzymbedarf noch eine erheblich verlängerte Reaktionszeit auf. Auch lassen sich die Ester auf einfache Weise aus dem Reaktionsgemisch gewinnen.

Die Alkohole werden in stöchiometrisch erforderlicher Menge für die Esterbildung, mit Vorteil jedoch in einem Überschuß von 2 bis 100 %, bevorzugt 5 % bis 20 %, gegenüber dem stöchiometrischen Bedarf den entsprechenden Ölen bzw. Fetten zugesetzt. Ein Überschuß an Alkohol beschleunigt dabei die Fettspaltung und bewirkt unerwarteter Weise in kurzer Zeit eine vollständige Spaltung aller Glyceri- de.

Das bei der Reaktion entstehende Glycerin geht aufgrund der äußerst guten Löslichkeit in Wasser und der sehr schlechten Löslichkeit in der hydrophoben organischen Phase in die Wasserphase über. Da die mittel- bis langkettigen

Alkohole sehr schlecht wasserlöslich, jedoch sehr gut löslich in der organischen Phase sind, Wasser dagegen in der organischen Phase sehr schlecht löslich ist, werden sie entsprechend dem chemischen Gleichgewicht enzymatisch zu Fettsäureestern umgesetzt. Dies geschieht entweder durch Veresterung der aus der Fettsäureesterstammenden Fettsäuren unter Abspaltung von Wasser, das in die wässrige Phase wandert, oder durch direkte Umesterung der Öle bzw. Fette unter Abspaltung von Glycerin, das ebenfalls in die wässrige Phase übergeht. Das chemische Gleichgewicht in der organischen Phase liegt somit ganz auf der Seite des Esters.

Durch einen überstöchiometrischen Zusatz von Alkohol kann das Gleichgewicht weiter auf die Seite des Esters verschoben und die Reaktionsgeschwindigkeit wesentlich erhöht werden. Schon bei einem geringfügig überstöchiometrischen Zusatz von Alkohol von etwa 5% ist die erfindungsgemäß durchgeführte enzymatische Fettsäureesterstammende Fettsäureesterstammende Fettsäuren in vielen Fällen nahezu vollständig. Dies wurde für eine Reihe von n- und Iso-Alkoholen von C8 bis C24 nachgewiesen. Die organische hydrophobe Phase enthält keine Mono-, Di- oder Triglyceride. Sie besteht lediglich aus Fettsäureestern des zugesetzten Alkohols, wenig freien Fettsäuren, der für deren Umsetzung erforderlichen Alkoholmenge und dem Alkoholüberschuß. Der Alkoholüberschuß einschließlich dieser noch nicht umgesetzten Alkoholmenge und die freien Fettsäuren lassen sich auf einfache Weise aus der organischen Phase entfernen und so die reinen Ester gewinnen.

Die Art der Maßnahmen zur Gewinnung der reinen Ester hängt von der Art der Fettsäuren und der Alkohole ab. Werden z.B. Ester von C18-Fettsäuren und C18-Alkoholen aus entsprechenden Ölen bzw. Fetten und Alkoholen erzeugt, lassen sich die freien C18-Fettsäuren zusammen mit dem C18-Alkoholüberschuß mittels Destillation aus dem Reaktionsendprodukt der Spaltung/Esterbildung entfernen, da die erzeugten Fettsäureester einen wesentlich niedrigeren Dampfdruck als die freien Säuren und Alkohole haben.

Die destillativ abgetrennten Fettsäuren und nicht umgesetzter Alkohol können zur kombinierten Spalt/Esterbildungsreaktion zurückgeführt werden und so ebenfalls

verlustfrei zu Estern umgesetzt werden. Bei kontinuierlicher Betriebsweise wird daher dem Ausgangsöl nur die stöchiometrische Menge zugesetzt, die Restmenge an Alkohol und die freien Fettsäuren werden kreislaufgeführt.

In einigen Fällen kann es vorkommen, daß die freien Fettsäuren und die entstehenden Ester etwa gleichen Dampfdruck aufweisen. Dies trifft z.B. bei Estern aus C18-Fettsäuren mit Iso-C13-Alkoholen zu. In diesen Fällen lassen sich die Überschußalkoholmengen des Iso-C13-Alkohols destillativ und die freien C18-Fettsäuren durch chemische Entsäuerung des als Sumpf bei der Destillation anfallenden Ester /Fettsäuregemisches abtrennen, freisetzen und rückführen.

Eine interessante Variante der Fettspaltung mit integrierter Ver- bzw. Umesterung ergibt sich bei Verwendung von Ölen, in denen die Fettsäuren nicht statistisch, sondern systematisch verteilt an den Alkoholgruppen des Glycerins gebunden sind wie z.B. die Erucasäure beim Crambeöl. Hier lassen sich bei geeigneter Wahl des spaltenden Enzyms gezielt nur Erucasäureester der zugesetzten Alkohole und Monoglyceride der anderen Fettsäuren des Crambeöls oder Erucasäurediglyceride und Fettsäureester der Nicht-Erucasäuren herstellen. Die Auftrennung der entstehenden Gemische kann dann in bekannter Weise vorzugsweise destillativ erfolgen. So läßt sich z.B. das bei kettenlängenspezifisch spaltenden Enzymen und Iso-C13-Alkohol als Alkoholkomponente entstehende Gemisch aus Diglycerid der Erucasäure, Iso-C13-Überschußalkohol und C18-Fettsäure-Iso-C13-Alkoholester auf einfache Weise destillativ trennen.

Von Vorteil kann es sein, das bei der enzymatischen Spaltung/Esterbildung entstehende Stoffgemisch, insbesondere nach Abtrennung einer selektiv durch ein spezifisches Enzym gebildeten Komponente (z.B. der C18-Fettsäure-Iso-C13-Alkoholester), in einem nachgeschalteten, zweiten enzymatischen Spaltprozess mit einem anderen Enzym umzusetzen und so die Fettsäuren bzw. Fettsäureester zu erhalten, für die dieses Enzym seine selektive katalytische Wirkung für den Spalt- und Esterbildungsprozeß entfaltet. So läßt sich ein weiter unten erläutertes von C18-Fettsäuren befreites Erucasäurediglycerid in einem zweiten enzymati-

schen Spaltprozess mit einem kettenlängen-unspezifischen Enzym zu Glycerin und Erucasäure bzw. in Anwesenheit von Alkohol zu Erucasäureester umsetzen.

Die erfindungsgemäße Durchführung der enzymatischen Fettspaltung gestattet somit, von Ölen und Fetten ausgehend, gezielt Fettsäuren und Fettsäureester herzustellen, die bisher nur wesentlich aufwendiger erzeugt werden konnten.

Ausgenutzt werden hierbei die bekannten Wirkungen von Lipasen als Biokatalysatoren, die das chemische Gleichgewicht zwischen Estern, Alkoholen, Wasser und Säuren einstellen. Sie wirken insbesondere auf Fette und Öle. Letztere sind Glycerinfettsäureester, vor allem Triglyceride, mittel- bis langkettiger, in der Regel unverzweigter Fettsäuren. Lipasen arbeiten im Zweiphasensystem Öl bzw. Fettsäuren als hydrophobe Phase und Wasser als hydrophile Phase an der Phasengrenzschicht und stellen das chemische Gleichgewicht in den beiden Phasen ein. Die Lage des chemischen Gleichgewichts wird dabei von der Konzentration der jeweiligen Stoffe in den jeweiligen Phasen bestimmt.

Im Phasensystem Wasser/Öl bzw. native Fettsäure ist die Konzentration von Wasser in der Wasserphase dominierend, in der Ölphase dagegen sehr gering. Da Glycerin sehr gut in Wasser, kaum jedoch in der hydrophoben Phase aus Öl bzw. hydrophoben Fettsäuren löslich ist, muß im Gleichgewicht die Glycerinkonzentration in der Wasserphase wesentlich höher als in der Ölphase sein. In der Ölphase vorhandenes bzw. gebildetes Glycerin geht daher nahezu vollständig in die Wasserphase über. Native Fettsäuren mittlerer bis langer Fettsäureketten sind hydrophob und in Wasser nahezu unlöslich. Ihre Konzentration ist daher in der Wasserphase sehr niedrig. In der hydrophoben Phase sind sie dagegen sehr gut löslich, sie können sogar selbst die hydrophobe Phase darstellen. Wirken Lipasen an der Grenzschicht Wasser/ Öl auf das Öl, so wird dieses unter Verbrauch von Wasser über Diglyceride und Monoglyceride letztlich zu Fettsäuren und Glycerin gespalten. Im Gleichgewichtszustand gilt dabei nach dem Massenwirkungsgesetz für die beiden Phasen:

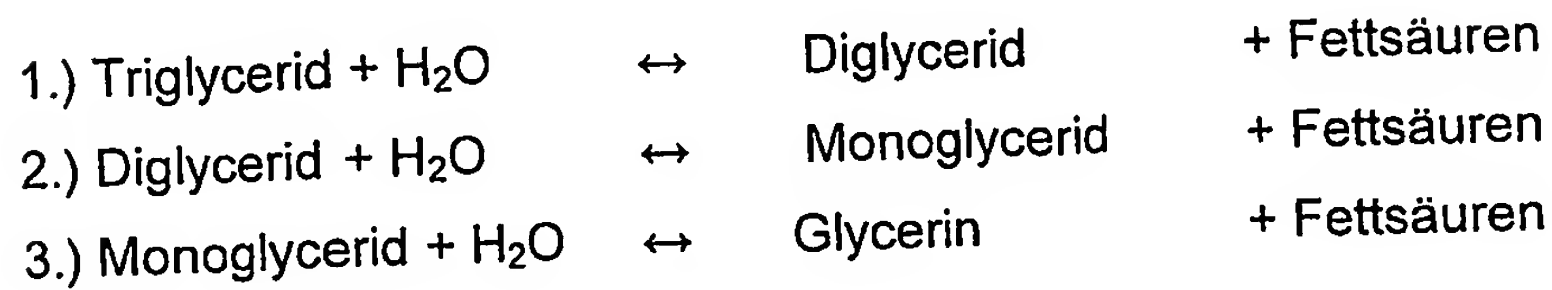
Wasserphase

$$\{[\text{Fettsäuren}]^3 \times [\text{Glycerin}]\} / \{[\text{Triglycerid}] \times [\text{Wasser}]^3\} = K$$

Öl-/Fettsäurephase

$$\{[\text{Fettsäuren}]^3 \times [\text{Glycerin}]\} / \{[\text{Triglycerid}] \times [\text{Wasser}]^3\} = K$$

Für das Reaktionsgleichungssystem der Triglyceridspaltung zu Fettsäuren gilt:



Daraus resultiert nach dem Massenwirkungsgesetz:

$$k_1 = \{[\text{Triglycerid}] \times [\text{H}_2\text{O}]\} / \{[\text{Diglycerid}] \times [\text{Fettsäuren}]\}$$

$$k_2 = \{[\text{Diglycerid}] \times [\text{H}_2\text{O}]\} / \{[\text{Monoglycerid}] \times [\text{Fettsäuren}]\}$$

$$k_3 = \{[\text{Monoglycerid}] \times [\text{H}_2\text{O}]\} / \{[\text{Glycerin}] \times [\text{Fettsäuren}]\}$$

$$K = k_1 \times k_2 \times k_3 = \{[\text{Triglycerid}] \times [\text{H}_2\text{O}]^3\} / \{[\text{Glycerin}] \times [\text{Fettsäuren}]^3\}$$

In der organischen Phase ist die Wasserkonzentration [H₂O] niedrig und konstant. Da Glycerin vorwiegend in der Wasserphase in Lösung geht, wird ebenfalls die Glycerinkonzentration [Glycerin] in der organischen Phase niedrig und damit quasi konstant. Damit ergibt sich:

$$K \times [\text{Glycerin}] / [\text{H}_2\text{O}]^3 = K' = [\text{Triglycerid}] / [\text{Fettsäuren}]^3.$$

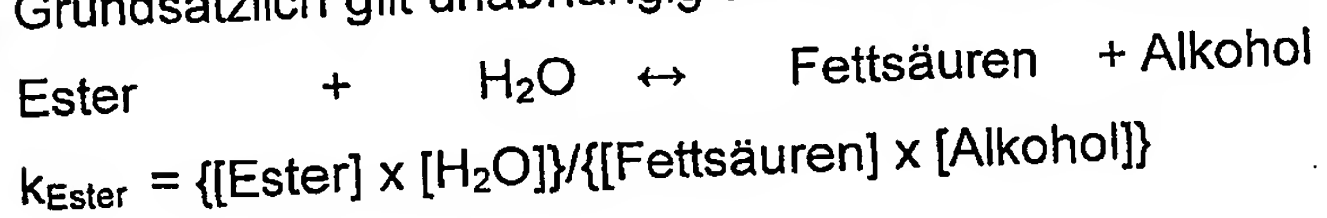
Aufgrund der Unterschiede in der Löslichkeit der jeweiligen Komponenten in der hydrophilen und hydrophoben Phase spalten Lipasen bei hoher Konzentration von Wasser in der hydrophilen Phase Fette und Öle nahezu vollständig in Glycerin und Fettsäuren. Das gebildete Glycerin löst sich dabei im Wasser, die Fettsäuren zunächst im Öl, bis sie zuletzt eine eigene, hydrophobe Fettsäurephase bilden.

Wird die enzymatische Fettspaltung erfindungsgemäß in Anwesenheit zusätzlicher, anderer Alkohole als dem in Fetten und Ölen enthaltenen Alkohol Glycerin durchgeführt, so stellen auch hier die Lipasen das chemische Gleichgewicht in der hydrophilen und hydrophoben Phase ein. (Ausgenommen hiervon sind Alkohole

und Alkoholkonzentrationen, die die Wirksamkeit des Enzyms beeinträchtigen bzw. mit dem Enzym unverträglich sind und es deaktivieren.) Auch in diesem Fall wird die Lage des chemischen Gleichgewichts vom Verteilungskoeffizienten der jeweiligen Komponenten zwischen der hydrophilen und hydrophoben Phase bestimmt. Die Berechnung bzw. die Abschätzung der chemischen Gleichgewichtsverteilung in den beiden Phasen ist naturgemäß komplizierter als bei der einfachen Fett- bzw. Ölsplattung. Dies gilt insbesondere für mehrwertige Alkohole, die wasserlöslich sind wie z.B. Trismethylpropan und Pentaerythrit.

Wesentlich einfacher zu kalkulieren ist das Verhalten von hydrophoben in Wasser praktisch unlöslichen Alkoholen (Mono- wie auch Polyole). Zu derartigen Alkoholen zählen die erfindungsgemäß eingesetzten mittel- (ab C6-Kettenlänge) bis langkettigen, n- und Iso-Alkohole. Diese Alkohole sind dem Zweiphasensystem zugesetzt praktisch nur in der organischen Phase löslich. Die wässrige glycerinhaltige Phase enthält entsprechend der geringen Sättigungskonzentration nur sehr wenig Alkohol. Ein Zusatz von solchen Alkoholen verschiebt das Spaltgleichgewicht durch Esterbildung und Verbrauch an freien Fettsäuren in Richtung Spaltung. Dies wird verstärkt durch Zugabe eines Alkoholüberschusses, so daß im Gleichgewicht in der organischen Phase keine Tri-, Di- und Monoglyceride mehr sein können. Für derartige gut in der organischen Phase lösliche Alkohole kann man die obige Reaktion in Anwesenheit von Alkohol wie folgt beschreiben:

Grundsätzlich gilt unabhängig von der Art des Alkohols:



Anders als bei wasserlöslichen Alkoholen gilt für gut in der organischen Phase lösliche Alkohole: [Alkohol] ist in H₂O gesättigt und damit konstant. Damit gilt:

$$K' \times K_{\text{Ester}} / [\text{H}_2\text{O}] = K'' = \{ [\text{Triglycerid}] \times [\text{Ester}] / [\text{Fettsäuren}]^4 \times [\text{Alkohol}] \}$$

Das erfindungsgemäße Verfahren läßt sich mit gutem Erfolg mit Alkoholen durchführen, deren Löslichkeit in Wasser kleiner 5 Gew.% bezogen auf die wässrige

Phase ist. Die Ausbeute und Umsetzungsrate nehmen bei steigender Wasserlöslichkeit des Alkohols ab. So wurde z.B. TMP als Alkohol im erfindungsgemäßen Verfahren eingesetzt, woraufhin die Umsetzungsrate um etwa 50% sank.

Einige Lipasen, sogenannte spezifische Lipasen, sind nicht fähig, sämtliche glyceridische Fettsäureesterbindungen zu spalten. Insbesondere die mittlere, am C2 des Glycerins gebundene Fettsäure kann von bestimmten Lipasen nicht abgespalten werden. Durch Verwendung derartiger Lipasen können daher gezielt z.B. Monoglyceride und Fettsäuren erzeugt werden. Enthalten die Ausgangsöle bestimmte Fettsäuren nicht statistisch, sondern systematisch verteilt im Öl oder Fett glyceridisch gebunden, so können mit spezifisch wirkenden Lipasen Fettsäuren bzw. deren Ester gewonnen werden, die nicht dem im Triglycerid vorhandenen Fettsäuremuster entsprechen.

So ist bekannt, daß langkettige Fettsäuren mit Kettenlängen > 20 wie Erucasäure in nativen Ölen und Fetten stets an den äußeren Hydroxygruppen des Glycerins, nicht jedoch an der mittleren Hydroxygruppe gebunden vorliegen. Bei Ölen wie z.B. erucasäurereichem Crambeöl mit über 60 Gew.% Erucasäure (und ca. 6 Gew.% Fettsäuren $> C_{22}$) sind praktisch alle Fettsäuren mit Kettenlängen $> C_{20}$ am C1 und C3 des Glycerins gebunden, die restlichen ca. 33,33 Mol. % C_{18} -Fettsäuren sind am C2 des Glycerins gebunden. Mit einer spezifischen Lipase kann man nun gezielt nur die endständigen Säuren abspalten und deren Ester erzeugen. Die Erucasäureester können dann z.B. über fraktionierte Kristallisation isoliert werden. Auch in diesem Fall wirkt das Enzym an der Phasengrenzschicht. Es kann daher erfindungsgemäß effizient kreislaufgeführt werden.

Weiterhin ist bekannt, daß die Wirksamkeit von Lipasen oftmals, je nach Typ der Lipase, abhängig von der Kettenlänge der jeweiligen Fettsäuren oder vom Sättigungsgrad und von der Konformation (Cis, Trans, konjugiert oder nicht konjugiert usw.) der Fettsäuren ist. Das erfindungsgemäße Verfahren kann auch diese Effekte zur gezielten Erzeugung von Fettsäuren bzw. deren Estern nutzen.

Auch in diesem Fall findet die Enzymkatalyse in der Grenzschicht der hydrophilen und der hydrophoben Phase statt. Die Kreislaufführung des Enzyms und Ausschleusung von Komponenten ermöglichen dabei die gezielte Erzeugung gewünschter Produkte. Dies kann beispielhaft wiederum am oben erwähnten Crambeöl erklärt werden.

Die unspezifische Lipase aus *Candida Rugosa* spaltet langkettige Fettsäuren wie Erucasäure wesentlich langsamer als C16 und C18 Fettsäuren. Erfindungsgemäß durchgeführt, führt die enzymatische Fettspaltung mit Lipase aus *Candida Rugosa* zu Erucasäure-1,3-Diglycerid und den am C2 des Glycerins abgespaltenen Fettsäuren. Letzteres sind C18-Fettsäuren. Mittels einer Kurzwegdestille lassen sich diese Fettsäuren und auch deren Ester aus dem Diglycerid in vorteilhafter Weise als Destillat abtrennen. Analoge Fälle lassen sich für eine Vielzahl anderer Fettsäuren wie z.B. Omega-3- und Omega-6-Fettsäuren bei Verwendung geeigneter Enzyme realisieren.

Wie bereits oben erwähnt, wird zur Abtrennung der Fettsäureester aus dem Reaktionsprodukt der Spalt/Esterbildungsreaktion vorzugsweise die Vakuumdestillation angewandt, und zwar bevorzugt eine schonende Kurzwegdestillation. Bei erzeugten Fettsäureestern mit niedrigerem Dampfdruck als dem der freien Fettsäuren und Alkohole enthält das Destillat die Überschussmenge an n- oder Iso-Alkohol, nicht umgesetzte Alkoholmengen und freie Fettsäuren. Das Destillat wird bevorzugt in den Spalt/Esterbildungsprozeß zurückgeführt.

Alternativ zur destillativen Abtrennung der Fettsäureester kann eine adsorptive Trennung (z.B. Säulenchromatographie) eingesetzt werden.

Vakuum-Dünnschicht-Verdampfer wie Fallfilmverdampfer oder Kurzwegdestillen sind im Vergleich zur Blasendestillationstechnik schonender und vor allem kontinuierlich betreibbar, weshalb sie bevorzugt eingesetzt werden. Zudem verlangen diese Destillationstechniken ohnehin einen flüssigen Restrückstand von mindestens ca. 5% bis 10%, da andernfalls der Destillationsfilm reißt. Diese Bedingung wird erfindungsgemäß eingehalten.

Der aus der Destille ablaufende Sumpf, enthält, wie weiter oben bereits ausgeführt, entweder die gewünschten Ester oder die Ester und noch nicht umgesetzte freie Fettsäuren.

Die erfindungsgemäß in der Zentrifuge, nach der bevorzugten Ausführung im Tellerpaket eines Separators, angesammelte emulsionsartige Zwischenschicht wird diskontinuierlich durch periodische Vollentleerungen der Trommel ausge-
tragen und die ausgetragene, Enzym enthaltende Zwischenschicht wird wieder-
verwendet. Dabei ist es zweckmäßig, die Trommelentleerung immer dann vorzu-
nehmen, wenn die ausgeschleuste organische Phase gerade noch nicht beginnt,
sich mit ausgeschleuster Zwischenschicht einzutrüben. Häufigere Entleerungen zu
vorgegebenen Zeitpunkten sind ebenfalls möglich, werden jedoch nicht bevorzugt.
Die Tatsache, daß bei der Vollentleerung auch wässrige Phase und organische
Phase mit ausgetragen werden, ist nicht nachteilig, da sämtliche Phasen durch
Rückführung in den Reaktor wiederverwendet werden. Statt einer Vollentleerung
sind auch Teilentleerungen anwendbar, die allerdings so einzustellen sind, daß
die Zwischenschicht möglichst vollständig ausgeschleust wird.

Auf die dargelegte Weise lassen sich die Verluste an mit der wässrigen Phase
und organischen Phase ausgetragenen Enzym drastisch senken. Im Vergleich
zum zeitabhängigen Enzymverbrauch (Enzymalterung) sind die Ausschleusungs-
verluste bei dieser erfindungsgemäßen Verfahrensweise sehr gering.

Eine technisch interessante Ergänzung der Erfindung zur weiteren Herabsetzung
eines Enzymverlustes in der abgetrennten organischen Phase besteht in der
Verwendung eines zusätzlichen selbstaustragenden Polierseparators. Dieser
zusätzliche Separator wird unmittelbar hinter dem Separator der einzigen oder
letzten Spalt-Esterbildungsstufe vorgesehen und erhält von diesem die ausge-
schleuste organische Phase. Es handelt sich bei diesem zusätzlichen Separator
vorzugsweise um eine selbstaustragende Zentrifuge mit Tellerpaket, die so einge-
stellt wird, daß sich die sedimentierenden Feststoffe, d.h. hier die Enzyme, und
die noch abschleuderbaren Reste an wässriger Phase an der Trommelwand

abscheiden. Die so abgeschleuderten Enzymmengen werden dann wiederum diskontinuierlich ausgetragen und in den Spalt/Esterbildungsprozeß zurückgeführt.

Vorteilhaft läßt sich vor allem bei Verwendung einer selbstaustragenden Zentrifuge zur Abtrennung der fettsäureesterhaltigen organischen Phase die Spaltreaktion in Schlaufenreaktoren diskontinuierlich, oder mit anderen Worten, absatz- oder batchweise durchführen und nicht kontinuierlich und in Durchlaufreaktoren. So wird z.B. ein Reaktor mit Öl befüllt, wobei dessen Schlaufe für die Umwälzung des Reaktorinhalts aus Öl bzw. Fett, Wasser, Alkohol und Enzym nicht aktiv ist. Ein weiterer Reaktor führt gleichzeitig die Spalt/Esterbildungsreaktion durch mit aktiver Schlaufe und ein dritter Reaktor wird während dieser Zeit über einen selbstaustragenden Separator abgefahren, wobei das Reaktionsgemisch in wässrige Glycerin haltige Phase, organische Phase mit abgetrennten Fettsäureestern und enzymhaltige Emulsionsgrenzphase, die sich als Zwischenschicht bildet, getrennt wird. Die Emulsionsgrenzphase wird von Zeit zu Zeit diskontinuierlich aus dem Separator ausgetragen, durch Versetzen mit frischem Enzym nachgeschärft und dem Reaktor wieder zugeführt.

Die Reaktion kann so auf sehr hohem Enzymniveau gefahren werden, da durch die Umwälzung und die in den Umwälzpumpen zur Wirkung kommenden Scherfelder des Schlaufenreaktorbetriebs eine außerordentlich große Phasengrenzfläche entsteht. Dabei ist es möglich, die zugeführte Wassermenge gering zu halten und eine wässrige Phase mit wesentlich erhöhter Glycerinkonzentration zu gewinnen, als dies zuvor in den erwähnten Spaltprozessen möglich war. Selbst bei über 30 Gew.% Glycerin in der ausgeschleusten wässrigen Phase findet in diesem Fall keine nennenswerte Verlängerung der Reaktionszeit statt. Derartig hohe Glycerinkonzentrationen hatte man bislang nicht für praktikabel gehalten. Weiterhin lassen sich durch die hohe Glycerinkonzentration die Enzymverluste drastisch senken.

Somit kann erfindungsgemäß die Wasserzugabe vorteilhaft gering sein. Bezogen auf die eingesetzte organische Phase aus eingesetztem Öl oder Fett und Alkohol wird mindestens 5 Gew.% Wasser zugesetzt. Die Zugabe von mehr als 200

Gew.% Wasser ist möglich, erschwert jedoch nur unnötig den gesamten Prozeß. Wenn man zudem den obigen Vorteil einer hohen durch die Erfindung möglichen Glycerinkonzentration im Bereich von etwa 10 bis 35 Gew.% bezogen auf die entstehende glycerinhaltige wässrige Phase nutzen will, arbeitet man bevorzugt im Bereich einer Wasserzugabe von 20 bis 30, maximal 50 Gew.% bezogen auf die eingesetzte organische Phase.

Erfindungsgemäß kann der Prozeß auf hohem Enzymniveau gefahren werden, ohne jedoch viel Enzym zu verbrauchen. So wird erfindungsgemäß die Lipase auch bei hoher Enzymaktivität in der Regel mit mindestens 0,01 Gew.% bezogen auf das eingesetzte Öl oder Fett als im Reaktor wirksame Menge vorgelegt. Ein derzeit bevorzugter Bereich für die vorgelegte Lipasemenge liegt bei den in den Ausführungsbeispielen angeführten Lipasen zwischen 0,1 und 0,5 Gew.% bezogen auf das eingesetzte Öl oder Fett. Dieses hohe Enzymniveau beschleunigt den Spalt/Esterbildungsprozeß ungemein. Andererseits ist durch die Enzymrückführung bedingt, der tatsächliche Enzymverbrauch sehr gering, so daß nur Bruchteile der vorgelegten Mengen nachdosiert werden müssen. In den Versuchen betrugen die nach zu dosierenden Lipasemengen weniger als zehn Prozent von der vorgelegten, im Reaktor wirksamen Menge. Der Fachmann weiß, daß er das optimale Enzymniveau nicht nur enzymtypspezifisch, sondern auch in Abhängigkeit von der Enzymaktivität des jeweiligen Präparates auswählen muß. Schließlich ist zu beachten, daß beim Übergang auf ein immer geringeres Enzymniveau der Prozeß auch immer langsamer wird. Zudem ist bekannt, daß die Steigerung des Enzymniveaus über bestimmte Werte hinaus keinen verfahrenstechnischen bzw. wirtschaftlichen Vorteil mehr bringt. Dies ist auch bereits in den weiter oben erwähnten Veröffentlichungen dargelegt worden. Der Fachmann kann unter Berücksichtigung dieser Tatsachen, für die jeweiligen Ausgangskomponenten seines Prozesses das optimale Enzymniveau mit wenigen Versuchen bestimmen.

Erfindungsgemäß kann in Anwesenheit von Alkohol die Spalt/Esterbildungsreaktion mit vollständiger Freisetzung des Glycerins in nur einer Stufe durchgeführt werden, wobei in dieser Stufe das Enzym im Kreislauf geführt wird.

Die erfindungsgemäße Spalt/Esterbildungsreaktion wird jedoch bevorzugt z. B. mit Umwälzreaktoren mehrstufig, beispielsweise in zwei Stufen durchgeführt. Die in der zweiten Stufe gewonnene wässrige Glycerinphase wird dann der ersten Stufe als Wasserphase zugeführt und der zweiten Stufe wird als Wasserphase Frischwasser und ferner die in der ersten Stufe gewonnene organische Phase zugeführt. Die zwei- oder mehrstufige Reaktion ist von Vorteil, weil die Enzymverluste so weiter minimiert werden können.

Das erfindungsgemäße Verfahren ist auch dazu geeignet, die Mono-, Di- und Triglyceride aus sogenannten Soap-Stocks aus der Alkali-Raffination von Speiseölen zu spalten und zu Fettsäureestern umzusetzen. Hierzu setzt man vorzugsweise vor der Spaltung/Esterbildung durch Zugabe von Säure die in den Seifen gebundenen Fettsäuren frei.

Die Erfindung wird nun anhand von Ausführungsbeispielen und der beiliegenden Zeichnungen erläutert, wobei

FIG. 1a eine schematische Darstellung eines Beispiels für einen industriellen Prozeß nach der Erfindung zeigt, der für den Fall ausgelegt ist, daß die entstehenden Fettsäureester destillativ von den noch nicht umgesetzten Fettsäuren und dem Alkohol abtrennbar sind und

FIG. 1b eine entsprechende schematische Darstellung eines modifizierten Prozesses für den Fall zeigt, daß die Fettsäureester nur zusammen mit den freien Fettsäuren destillativ abgetrennt werden können.

Die FIG. 1a und 1b zeigen eine erfindungsgemäße Anordnung zur zweistufigen kombinierten Fettspaltung/Fettsäureesterbildung, die dazu geeignet ist, die aufgezeigten Merkmale im Produktionsmaßstab zu realisieren. Es sind zwei Prozeßstufen 1 und 2 vorgesehen, die jeweils drei Reaktoren mit Umwälzungsschleife umfassen. Die Reaktoren werden, wie weiter oben bereits dargelegt, intermittierend betrieben: Befüllen, Reaktionsphase, Entleerungsphase. Die jeweils für jeden der drei Reaktoren einer Stufe vorgesehene Umwälzungsschleife ist mit einer in der Zeichnung angedeuteten Kreiselpumpe und mit einem vorgeschalteten Wärmeaustauscher realisiert. Die Reaktoren bestehen z.B. aus Edel-

stahlbehältern mit Rührwerk. Ferner ist für jede Stufe ein Separator in Form eines selbstaustragenden Teller-Separators vorgesehen.

Der Ausgang des Separators der zweiten Spaltstufe, aus dem die organische Phase mit den Fettsäureestern ausgeschleust wird, ist mit einer Vakuum-Kurzweg-Destille verbunden, in der eine Kurzwegdestillation zur Abtrennung der freien Fettsäuren und des Alkohols von den gebildeten Fettsäureestern erfolgt - für den oben dargelegten Fall, daß die letzteren einen niedrigeren Dampfdruck haben als die ersteren.

Das Rückstandsprodukt der Destillation enthält bereits die gewünschten Ester, wenn die noch nicht umgesetzten freien Fettsäuren und der Alkohol leichter flüchtig als das Endprodukt in Form der gewünschten Fettsäureester sind. Dies entspricht dem in Fig.1a skizzierten Prozeß.

Wird gemäß Fig.1b stattdessen als Destillat nur der Alkohol gewonnen, enthält das Rückstandsprodukt der Destille sowohl die Ester als auch freie Fettsäuren. In einem Separator werden die freien Fettsäuren durch Zugabe einer alkalischen Lösung, z.B. Natronlauge, neutralisiert und können dann als schwerere Seifenphase von den Fettsäureestern zentrifugal abgetrennt werden. Die Seifenphase wird in an sich bekannter Weise z.B. in einer weiteren Zentrifuge unter vorheriger Zugabe von Säure, z.B. Schwefelsäure, in Fettsäuren und Salze gespalten, wobei die Fettsäuren in die erste Stufe der Reaktion zurückgeleitet werden.

Den Reaktoren werden eine Pufferlösung, das zu spaltende Triglycerid, der jeweilige esterbildende Alkohol und Enzym, d.h. Lipase, zugeführt. Ferner wird Enzym bei jeder intermittierend herbeigeführten Entleerung der Separatoren gewonnen und zurück in den gerade zu befüllenden Reaktor derselben Stufe geleitet, dem auch der jeweilige Separator zugeordnet ist. Somit bleibt das Enzym mit gleichzeitig ausgeschleusten Anteilen an freien Fettsäuren, noch nicht gespaltenen Triglyceriden usw. im Kreislauf einer Stufe. Hierdurch ist verhindert, daß sich die Ausgangsprodukte unterschiedlicher Qualität der beiden Stufen wieder teilweise vermischen. Auch die Gefahr von Rückreaktionen ist hierdurch verrin-

gert. Schließlich sei noch erwähnt, daß dem Separator der ersten Stufe Glycerin-Lösung als die abgetrennte schwerere flüssige Phase entnommen wird und zur Weiterverarbeitung bereit steht.

Als Pufferlösung wird eine leicht saure Standardlösung, die nach den Maßgaben des Enzymherstellers ausgewählt und eingestellt wird, eingesetzt. In den Ausführungsbeispielen wurde eine leicht sauer gestellte wässrige Lösung mit Natriumacetat und Essigsäure eingesetzt. Der optimale PH-Wert der Pufferlösung wird nach dem jeweiligen Enzym eingestellt.

Dies gilt auch für die Temperatur in der Prozeßführung. In den Versuchen wurden Temperaturen zwischen 25 und 45 °C getestet. Hierbei ist zu beachten, daß die Temperatur aufgrund der exothermen Reaktion ohnehin leicht erhöht ist. In den getesteten Fällen war es jedoch ohne weiteres möglich, dafür zu sorgen, daß die wässrige und organische Phase flüssig gehalten wurden und Kristallisationen in den flüssigen Phasen nicht auftraten.

Als Enzyme kommen prinzipiell alle Enzymsorten in Betracht, die in den eingangs erwähnten Veröffentlichungen von Bühler und Wandrey dargelegt sind. Es wurden verschiedene *Candida Rugosa* Enzyme gründlich erprobt. Darüber hinaus eignet sich das erfindungsgemäße Verfahren auch für die Verwendung von aus Ölsaaten (z.B. aus Ricinusöl) gewinnbaren Enzymen. Diese haben naturgemäß den Vorteil einer besonderen selektiven Wirksamkeit für bestimmte Fettsäuren. Sie werden jedoch bisher kaum zur Fettspaltung eingesetzt und sind in der Regel teurer als andere fermentativ industriell aus Hefen, Pilzen, Bakterien und dergleichen hergestellte Enzyme.

In den Versuchsreihen wurden als n-Alkohole Oleylalkohol und Stearylalkohol erprobt. Als Iso-Alkohole wurden Versuchsreihen mit Iso-C8, Iso-C10, Iso-C13, Iso-C16, Iso-C18, Iso-C20 und Iso-C24 gefahren.

Die Ester wurden aus High-Oleic-Sonnenblumenöl hergestellt. Je nach Anwendungsfall kann man von entwachstem und raffiniertem oder auch rohem Öl oder Fett ausgehen.

Es ist auch möglich, die Erfindung mit weniger gängigen und speziell längerketten Alkoholen über C26 bis zu C36 und mit anderen Ölen und Fetten auszuführen.

Beispiel

Ein Ansatz von etwa 20 kg entwachstem und raffiniertem High Oleic Sonnenblumenöl 90plus[®] wurde in einem Rührgefäß (80 l Volumen) vorgelegt, mit 22,3 kg (10% stöchiometrischem Überschuß) Isofol 20 (C-20 Alkohol der Fa. Fuchs Petrolub), 10,6 kg Pufferlösung (0,1 n Na- Azetat/ Essigsäure, pH 4,6) und 40 g OF-Enzym 360 (Fa. Meito Sangyo) vermischt und 3 Stunden bei etwa 40°C mittels Kreiselpumpe umgepumpt.

Danach wurde die Mischung im freien Gefälle bei einer Leistung von etwa 30 kg/h Phasensumme direkt in eine Tellerzentrifuge (SA 1-01, Westfalia Separator AG, Oelde) geführt und kontinuierlich getrennt. Die Säurezahl der ablaufenden organischen Phase wurde mittels Titration (in alkoholischer Lösung mit 0,1 n KOH) bestimmt und durchlief ein Maximum bei etwa 55, um gegen Ende auf etwa 15 abzufallen.

Das Enzym wurde zusammen mit geringen Mengen an organischer Phase und Glycerinwasser aus der Zentrifuge ausgeschleust. Es zeigte kaum Aktivitätsverlust und konnte wieder verwendet werden.

Aus der Zentrifuge konnten eine klare Öl-/Esterphase und eine klare Glycerinlösung als wässrige Phase abgefahren werden. Die wässrige Phase enthielt die erwartete Menge an Glycerin als ca. 17 Gew.-%-ige Lösung.

In der Öl-/Esterphase konnte mittels Dünnschichtchromatographie kein Tri-, Di-, oder Monoglycerid nachgewiesen werden. Nach einer abschließenden Vakuumdestillation eines Aliquots von 4 kg wurde der entsprechende C-20 Iso- Ester als Rückstand in 95 %-iger Ausbeute bezogen auf die eingesetzte Ölmenge erhalten.

Das Destillat enthielt die Überschussmenge des Iso-Alkohols und die restlichen nicht umgesetzten Mengen an Iso-Alkohol und freien Fettsäuren.

Ein Teil des Destillats wurde im Laborversuch einem stöchiometrischen Ansatz aus Öl, Iso-Alkohol und Pufferlösung zugesetzt, so daß der Alkoholüberschuß bezogen auf die neu eingesetzte Ölmenge wieder bei 10% lag.

Die Ausbeute erreichte in gleicher Zeit bei gleicher Menge an Enzym ebenfalls 95 %. Auch hier konnten nach Abschluß der Reaktion aus der abzentrifugierten organischen Phase vergleichbare Mengen an nicht umgesetztem Iso-Alkohol und freien Fettsäuren abdestilliert werden, so daß eine verlustfreie Kreislaufführung des Destillats möglich war. Es ist damit auch bewiesen, daß das eingesetzte Enzym (OF 360) die Veresterung von freien Fettsäuren und Iso- Alkohol in Anwesenheit einer wässrigen Phase katalysiert.

Die Wirksamkeit des erfindungsgemäßen Verfahrens wurde ferner für die n-Alkohole Oleylalkohol und Stearylalkohol erprobt. So wurde z.B. ein Versuch mit einem Oleylalkohol (MG= 268,49) und der im obigen Beispiel eingesetzten Lipase mit gleichem Erfolg durchgeführt. Als Iso-Alkohole wurden Iso-C8, Iso-C10, Iso-C13, Iso-C16, Iso-C18, Iso-C20 und Iso-C24 eingesetzt. Darüber hinaus wurden auch erfolgreiche Versuche mit Crambeöl gemacht, wobei sich die weiter oben dargelegten Möglichkeiten zeigten. Ein verzweigtes C16/C18 Fettalkoholgemisch (MG=286) konnte ebenfalls mit der obigen Lipase erfindungsgemäß erfolgreich umgesetzt werden.

Prinzipiell kann das erfindungsgemäße Verfahren auch auf synthetische Fettsäureester, z.B. synthetische Triglyceride und andere Polyolester angewandt werden.

Ansprüche

1. Verfahren zur enzymatischen Herstellung von Fettsäureestern aus nativen Ölen und Fetten und Alkoholen, insbesondere n- und Iso-Alkoholen, dadurch gekennzeichnet,

daß man auf ein Gemisch aus einem Öl bzw. Fett, Wasser und einem öl- bzw. fettlöslichen Alkohol als Biokatalysatoren für eine Spaltung des Öls bzw. Fetts und eine Esterbildung Lipasen einwirken läßt,

daß das hierbei gebildete Reaktionsgemisch zur Trennung in eine wässrige, glycerinhaltige Phase und eine organische Phase, die die gebildeten Fettsäureester enthält, in eine selbstaustragende Zentrifuge gegeben wird,

daß die Zentrifuge so eingestellt wird, daß eine zwischen der ablaufenden wässrigen und ablaufenden organischen Phase auftretende, mit Lipase angereicherte Zwischenschicht sich in der Zentrifuge ansammelt, und

daß die Zentrifuge zu vorgegebenen Zeitpunkten entleert wird und der dabei ausgetragene Trommelinhalt der Zentrifuge in den kombinierten Spalt- und Esterbildungsprozeß zurückgeführt wird bzw. für einen weiteren Spalt- und Esterbildungsprozeß bereitgestellt wird.

2. Verfahren nach Anspruch 1,

dadurch gekennzeichnet,

daß der Alkohol mit einem Überschuß von 2 bis 100 %, vorzugsweise 5 bis 20%, gegenüber der stöchiometrisch erforderlichen Menge für die Esterbildung zugesetzt wird.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2,

dadurch gekennzeichnet,

daß das Wasser zugesetzt wird mit mindestens 5 Gew.% bezogen auf die eingesetzte organische Phase aus Öl bzw. Fett und Alkohol.

4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche,

dadurch gekennzeichnet,

daß als der Alkohol solche Alkohole eingesetzt werden, die in der gebildeten organischen Phase gut löslich, hingegen in Wasser erheblich schlechter löslich sind, insbesondere mittel- bis langkettige n- und Iso-Alkohole.

6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die Fettspaltung/Esterbildung diskontinuierlich in Reaktoren durchgeführt wird, die im Schlaufenbetrieb mit durch Pumpen umgewälztem Reaktorinhalt betrieben werden, wobei mehrere Reaktoren parallel für eine einzige oder eine mehrerer Reaktionsstufen vorgesehen sind, einer der Reaktoren bei nicht aktivierter Umwälzschleife befüllt wird, währenddessen ein weiterer Reaktor mit aktiver Umwälzschleife im Spalt/Esterbildungsbetrieb gefahren wird und ein noch weiterer Reaktor ebenfalls bei nicht aktivierter Umwälzschleife über eine Zentrifuge entleert wird, die die sich beim Spaltprozeß bildende wässrige, glycerinhaltige Phase von der organischen Phase, die Fettsäureester enthält, trennt, bevor die Fettsäureester von der organischen Phase getrennt werden.

7. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß als Lipasen unspezifische Lipasen, spezifische Lipasen oder Mischungen von unspezifischen und spezifischen Lipasen eingesetzt werden.

8. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß aus der organischen Phase freie Fettsäuren und Alkohol von den gebildeten Fettsäureestern destillativ abgetrennt werden und in den Spalt/Esterbildungsprozeß zurückgeführt werden.

9. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die aus der selbstaustragenden Zentrifuge abfließende organische Phase einer weiteren selbstaustragenden Zentrifuge, insbesondere einer Polierzentrifuge zugeführt wird, die ebenfalls intermittierend entleert wird, um die sich als Sediment

an der Zentrifugenwand abscheidenden Lipaserestmengen für den Spaltprozeß wieder zu gewinnen.

10. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach einem der vorhergehenden Ansprüche, aufweisend:

- einen oder mehrere Spalt/Esterbildungsreaktoren,
- eine oder mehrere selbstaustragende Zentrifugen, in denen sich die zwischen der abfließenden wässrigen und abfließenden organischen Phase auftretende, mit Lipase angereicherte Zwischenschicht ansammelt, und die zu vorgegebenen Zeitpunkten entleert werden,

- eine Rückführungseinrichtung zur Rückführung des intermittierend ausgetragenen Trommelinhalts der Zentrifuge in den kombinierten Spalt- und Esterbildungsprozeß, und eine

- Einrichtung zur Trennung von Alkohol, freien Fettsäuren und gebildeten Fettsäureestern aus der von der Zentrifuge gelieferten organischen Phase.

11. Vorrichtung nach Anspruch 10,

dadurch gekennzeichnet,

daß die Einrichtung zur Trennung eine Destillationseinrichtung, insbesondere eine Kurzwegdestille oder ein Fallfilmverdampfer, ist.

Zusammenfassung

Verfahren und Vorrichtung zur Herstellung von Fettsäureestern aus nativen Ölen und Fetten und Alkoholen, insbesondere n- und Iso-Alkoholen

Verfahren zur enzymatischen Herstellung von Fettsäureestern aus nativen Ölen und Fetten und Alkoholen, insbesondere n- und Iso-Alkoholen, in welchen man auf ein Gemisch aus einem Öl bzw. Fett, Wasser und einem öl- bzw. fettlöslichen Alkohol als Biokatalysatoren für eine Spaltung des Öls bzw. Fetts und eine Esterbildung Lipasen einwirken läßt, das hierbei gebildete Reaktionsgemisch zur Trennung in eine wässrige, glycerinhaltige Phase und eine organische Phase, die die gebildeten Fettsäureester enthält, in eine selbstaustragende Zentrifuge gegeben wird, die Zentrifuge so eingestellt wird, daß eine zwischen der ablaufenden wässrigen und ablaufenden organischen Phase auftretende, mit Lipase angereicherte Zwischenschicht sich in der Zentrifuge ansammelt, die Zentrifuge zu vorgegebenen Zeitpunkten entleert wird und der dabei ausgetragene Trommelinhalt der Zentrifuge in den kombinierten Spalt- und Esterbildungsprozeß zurückgeführt wird.

Fig. 1 a

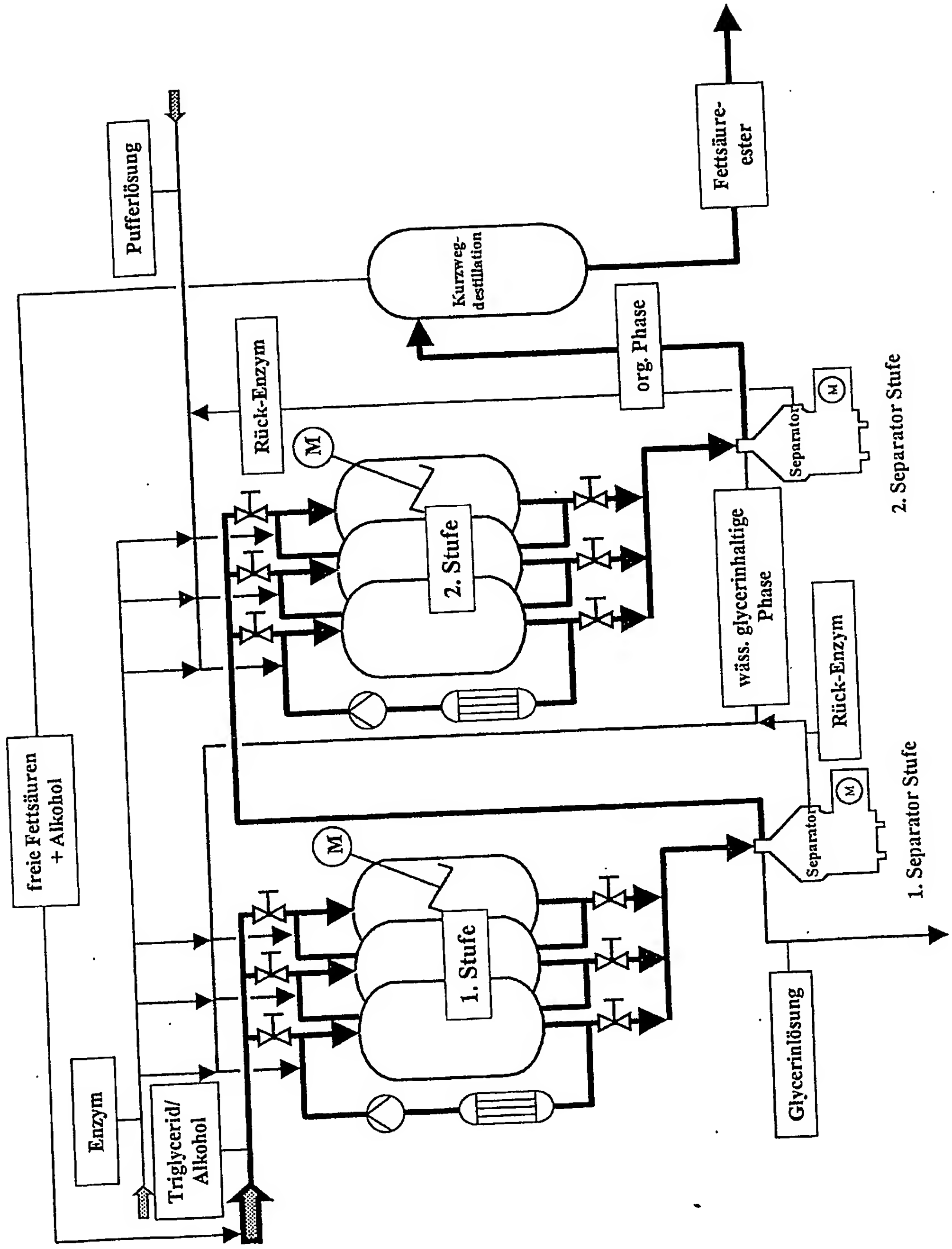
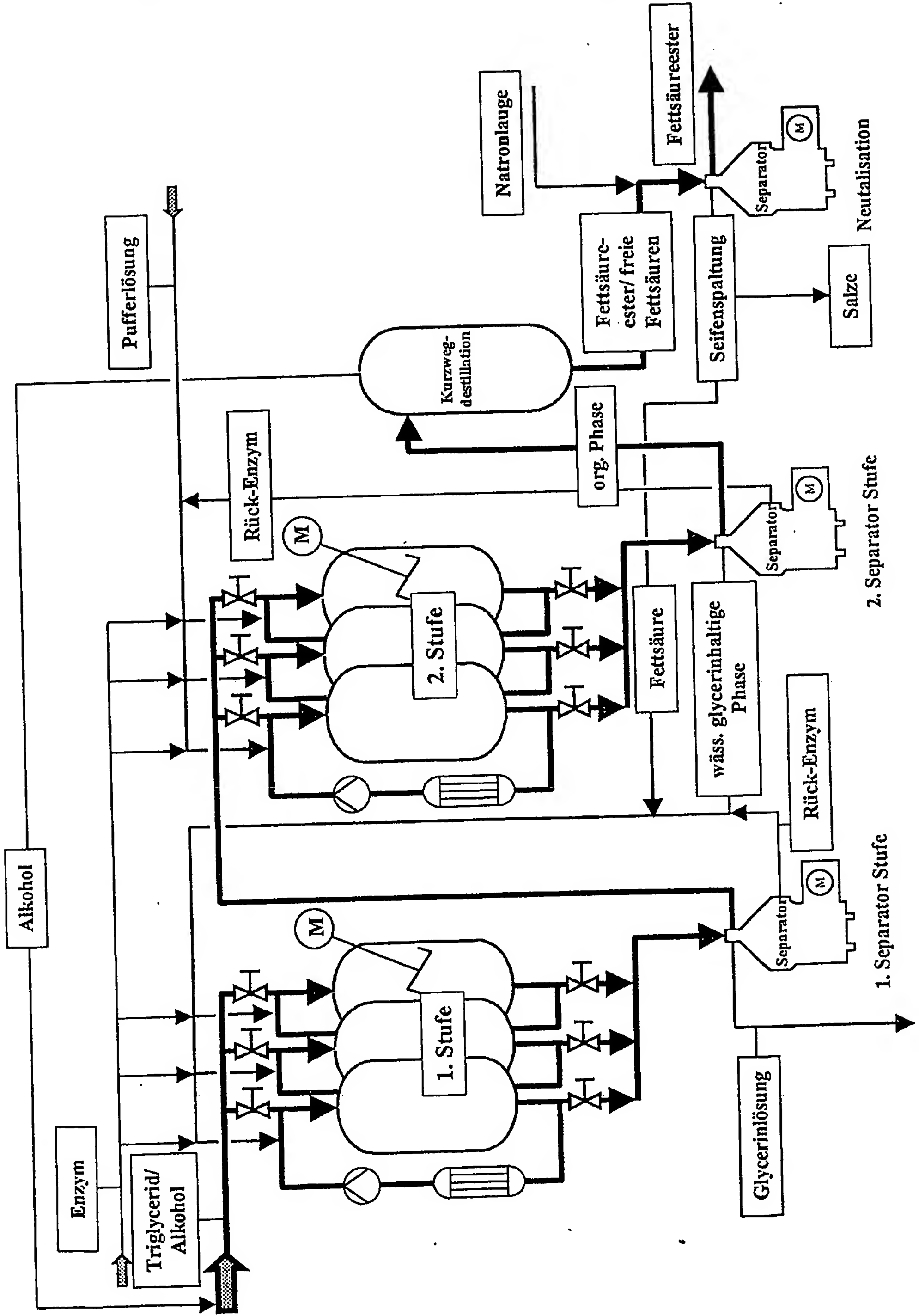


Fig. 1 b



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.